



TITLE:

DNA二重らせん変形の自由エネルギー(IV.生物物理・高分子,ソリトン系のダイナミクスとそれに関するカオスの問題,基研長期研究会報告)

AUTHOR(S):

坪井, 正道

CITATION:

坪井, 正道. DNA二重らせん変形の自由エネルギー(IV.生物物理・高分子,ソリトン系のダイナミクスとそれに関するカオスの問題,基研長期研究会報告). 物性研究 1984, 42(3): 461-467

ISSUE DATE:

1984-06-20

URL:

<http://hdl.handle.net/2433/91372>

RIGHT:

なる領域にある時, すなわち ε が

$$\varepsilon > 3, \quad 1 > \varepsilon > 0, \quad -3/7 > \varepsilon > -7/11, \quad \dots \quad (11)$$

なる領域にある時, $\Phi = \text{const.}$ の存在が否定される。(9) と (11) を合わせて結局

$$\varepsilon = 0, 1, 3$$

なる積分可能な場合以外での積分不可能性が証明できたことになる。

文 献

Ziglin, S. L., *Funct. Anal. Appl.*, **16** (1983), 181, **17** (1983), 6.

Yoshida, H., *Celest. Mech.*, **32** (1984), No. 1 in press, and in preparation.

DNA二重らせん変形の自由エネルギー

東大・薬 坪 井 正 道

1. はじめに

筆者に与えられた課題は,

(A) DNA 二重らせんにソリトンと呼べるような, 安定なかたまりとして伝播する構造欠陥が有得るか?

(B) それはどんな実験に反映し得るか?

であったと理解している。DNA 二重らせんの性質については, 最近別に紹介する機会¹⁻³⁾を与えられているので, ここではすぐに本論に入ることにする。

2. 安定に伝播する欠陥

上記 (A) に対する答えとして, 設問に合致する構造欠陥は図 1 の (d) のようなものであるといえる。これは, 無傷の DNA 二重らせん (a) から, まず 1 ピッチぶんの鎖間水素結合を切つて (b), 次に (c) のように一方の鎖に切断をつくり, 他方の鎖をしてこの切断箇所をくぐらしめ, そのあと切断をつないだとしたらできるであろうような欠陥である。これは, トポロジカ

ルに(a)とは異なるのであるから、(a)のような無傷の形に持っていくことは局所的には不可能である。しかし(d)→(e)のように鎖に沿って欠陥箇所を移動させていくことにより、もと

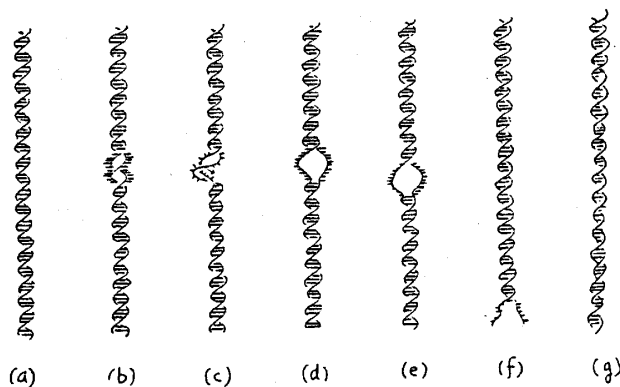


図1. DNA二重らせんとその中に可能な構造欠陥。

の欠陥箇所を無傷にもどすことは可能である。また欠陥の移動を(f)のように鎖の末端まで行なえば、欠陥そのものを消滅させることもできる。また、(g)のようにらせんのピッチを少しずつ長くして、欠陥を鎖全体にばらまいて平均化することも可能である。いずれにしろ、この(d)のようなトポロジカルな欠陥が存在するか否かは確定していない。ただ、これを仮定し得るような実験結果として次のようなものがある。

3. 重水素化速度

DNA を重水に溶かすと、分子中塩基で



のような重水素化がおこる。その反応速度は、図2に示すように、これら塩基が孤立している場合よりもずっとおそい。⁴⁾ これは塩基対形成のためであって、これが切れた中間体 (H_{open}) を必要とするからであると考えられる。すなわち、重水素化反応は

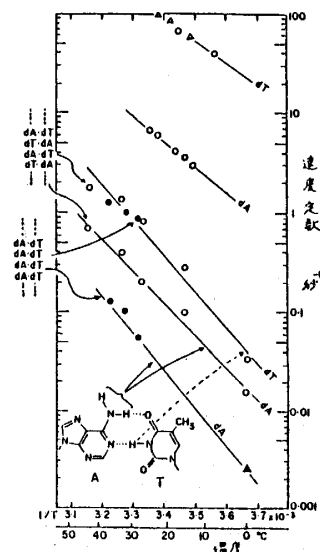
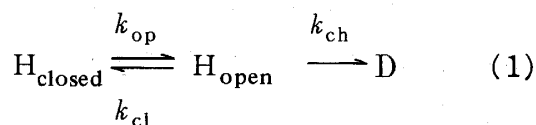


図2. 重水素化反応の速度定数。⁴⁾

△ ▲ は間接の実験結果。

であると仮定する。すると、その速度定数は

$$k = \frac{k_{op} k_{ch}}{k_{cl} + k_{ch}} \quad (2)$$

で与えられる。表1に実測値を示し、このモデルを仮定した上での H_{open} という中間体の自由エネルギー ΔG^0 、エンタルピー ΔH^0 、エントロピー ΔS^0 が算出してある。 ΔH^0 が小さいこと、しかし H_{open} を生じさせる活性化エネルギー ΔH^\ddagger が大きいことは、 H_{open} と称する中間

表1. チミジン (dT) の NH およびデオキシアデノシン (dA) の NN_2 基の重水素化反応速度定数 (sec^{-1} , 20°C , pH 7) とその解釈⁴⁾

		実 測	解 釈 ((1) 式による)		温度効果 (図2参照) から 見積もられる諸定数 (カッコ内は標準偏差)		
NH ↓ ND	チミジン	82 sec^{-1}			kcal	e.u.	
	Poly d(AT) · poly d(AT)	0.35	$k_{op} = 0.35 \text{ sec}^{-1}$		$\Delta H^\ddagger = 17.0$ (0.9)	$\Delta S^\ddagger = -2.6$ (3.8)	
	Poly dA·poly dT	0.35	0.35		同 上	同 上	
NH ₂ ↓ ND ₂	デオキシアデノシン	4.9	$K = k_{op}/k_{cl}$ $= 0.024$	sec^{-1} $k_{cl} = 15$	kcal	kcal	e.u.
	Poly d(AT) · poly d(AT)	0.12			$\Delta G^0 = 2.2$	$\Delta H^0 = 4.1$ (1.2)	$\Delta S^0 = 6.1$ (3.9)
	Poly dA·poly dT	0.024			3.1	7.3 (0.8)	13.9 (2.8)

体が、上記の図1 (d) のようなものであることを示唆するとみることができる。

4. トポアイソマーの存在確率

ここで問題にするのは、図3のような閉じた環状二重らせん DNA である。二重鎖の一方の鎖が他方を何回巻いているかの巻数をトポロジカル巻数 (α) という。トポアイソマーとは、この α の値だけが異なる異性体を意味する。この異性体は相互に変わることができないが、一方の鎖に1個切断を入れて、他方の鎖を自由にくぐらせ、再びここをつなぐという操作をほどこすことによってトポアイソマー間の熱平衡を出現させることができる。図4に示すのは、そのような熱平衡下でのトポアイソマーの分子数の分布の一例である。⁵⁾ ここで横軸はゲル電気泳動における泳動距離である。これは直接 α を見ているのではなくて、むしろ超らせんの巻数 τ (のたうちまわり数) をみているのである。図3の右は $\tau = 1$ の超らせんである。 α と τ との間には次の関係がある。

$$\alpha = \beta + \tau \quad (3)$$

ここで β は二重らせん構造自体の巻数で、全塩基対の数 N をらせん1ピッチにふくまれる塩基対の数 ($h \approx 10.0 \sim 10.5$) で割ったものに等しい。すなわち

$$\beta = N / h \quad (4)$$

図4の縦軸には、電気泳動が終ったあとで蛍光色素で DNA を染めて、蛍光強度によって分子数の相対値を測定した結果が目盛ってある。

5. 確率最大の τ 値の温度依存性

閉じた環状二重らせん DNA が、全く「のたうちまわって」いない時 ($\tau = 0$) 電気泳動はおそい。そして「のたうちまわり」の数 (τ) が大きいほど速く泳動することが既に知られている。図4の各ピークの上に示した α , β , τ の数値は、この知識を考慮に入れた上で筆者が与えた1つの解釈である。この解釈によると、環状 DNA を閉じる時の温度によって β の分布がかなり大きく異なることになる。すなわち、温度が高いほど平均の h の値が大であるということになる。更にこれに対する解釈として、図1 (d) のような欠陥箇所が温度とともに増大するのであるとすることができる。既に重水素化速度測定結果の解釈によって見積もった欠陥箇所は 20°C で、 $0.5 \sim 2\%$ (表1の K の値) であるから、 $N = 9850$ 中には $5 \sim 20$ 個所あってよいことになる。さらに、 14°C と 29°C とでその差が5ヶ所 (図4で $\beta_0 + 11$ と $\beta_0 + 6$ との

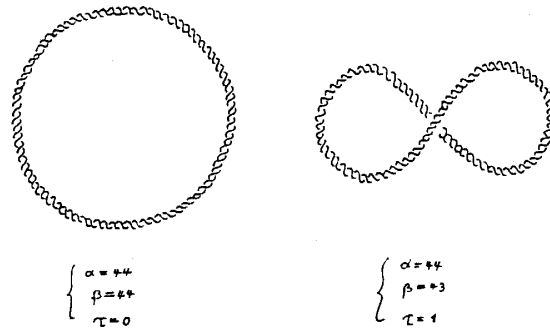


図3. 閉じた環状 DNA 二重らせん。

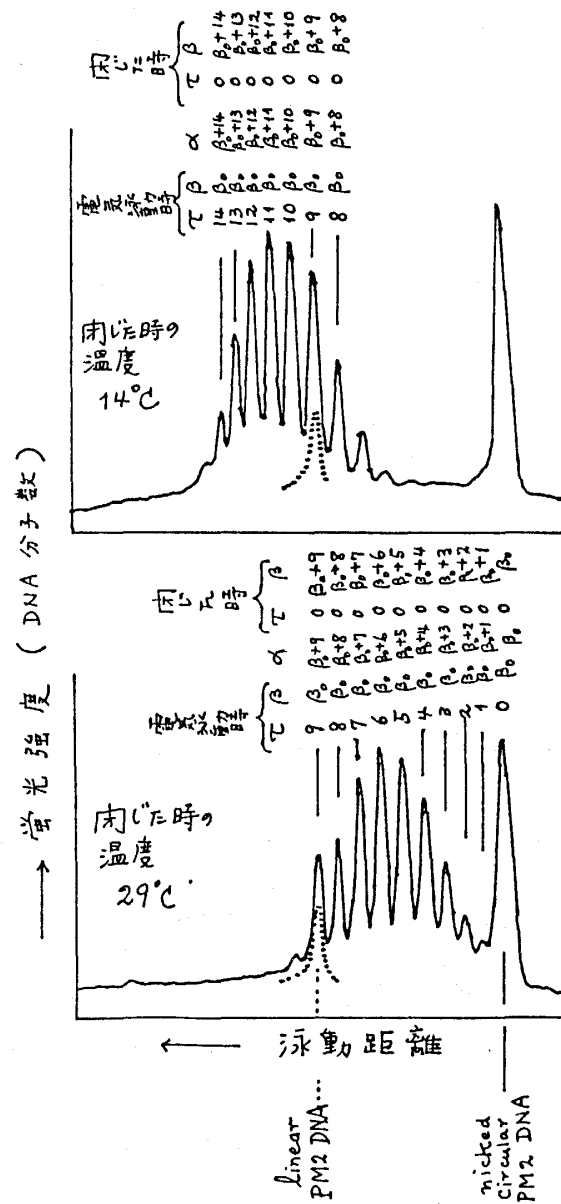


図4. PM2 DNA (塩基対の総数 $N = 9850$ の環状 DNA) に一旦 nick を入れて、リガーゼによってふたつびつなぎ、そのあと電気泳動によってトポアイソマーを分析した結果。⁵⁾

差) ぐらいあっても、これは表1に示した

$$\Delta H^0 = 4 \sim 7 \text{ kcal}$$

という値と矛盾はしない。

6. 「ねじれ」ならびに「まげ」の力の定数

ここでついでに図4にみられる分布関数 $P(\beta)$ の形 (ガウス分布である) に関しての筆者の解釈を述べておこう。まずこれを h の出現確率の分布とみると、これは DNA 二重らせんのねじれ変形 (ϕ) のポテンシャル関数 (V_ω) の反映ということになる。それを

$$V_\omega = \frac{1}{2} k_\omega (\phi - \phi_0)^2 \quad (5)$$

とおけば、

$$\beta - \beta_0 = \frac{N(1-K)}{2\pi} (\phi - \phi_0) \quad (6)$$

であるから

$$P(\beta) = \exp \left[-\frac{1}{2} k_\omega \frac{4\pi^2}{N(1-K)} (\beta - \beta_0)^2 / k_B T \right] \quad (7)$$

となる。これを直ちに実測結果 (図4) に当てはめると

$$k_\omega = 0.2 \times 10^{-11} \text{ dyne} \cdot \text{cm/rad}$$

となってしまふ。これは、既に螢光偏光解消時間から見積もられている値⁶⁾

$$k_\omega = 0.4 \times 10^{-11} \text{ dyne} \cdot \text{cm/rad}$$

とかなりちがう。このくいちがいは、図4に示した解釈が単純すぎる点から来るのであって、ここで更に「のたうちまわり」回数 τ の熱運動による分布を考慮しなければならないことを示すのであろう。DNAについて知られる Young 率^{1, 2)} から、DNA 二重らせんの「曲げ」の力の定数は

$$k_b = 0.6 \times 10^{-11} \text{ dyne} \cdot \text{cm/rad}$$

と見積もられる。(7)式による β の分布の各点が、更に

$$P(\tau) = \exp \left[-\frac{1}{2} k_b \frac{4\pi^2}{N(1-K)} (\tau - \tau_0)^2 / k_B T \right] \quad (8)$$

のように分布すると仮定し、

$$k_\omega = 0.4 \times 10^{-11}, \quad k_b = 0.6 \times 10^{-11} \text{ dyne} \cdot \text{cm/rad}$$

という数値を用いれば

$$P(\alpha) = \exp \left[-\frac{1}{2} k_{\text{eff}} \frac{4\pi^2}{N(1-K)} (\alpha - \alpha_0)^2 / k_B T \right] \quad (9)$$

ここで、

$$k_{\text{eff}} = k_\omega k_b / (k_\omega + k_b) = 0.2 \times 10^{-11} \text{ dyne} \cdot \text{cm/rad} \quad (10)$$

となって実測の分布がよく説明できる。

7. 今後の課題

DNA 二重らせん分子の [A] 「ねじれ」や「曲げ」の座標と、[B] DNA 鎖中の単結合のまわりの内部回転角やリボース環偽回転位相角、塩基のねじれ、傾き、ローリング、後退等の座標との関連を明確にすること、そして [B] の各座標に沿うポテンシャル関数を明らかにすることが次の課題である。これによって、たとえば本記事の主題である図 1 (d) のような欠陥と、これが二重鎖全体にばらまかれた (g) のような形との安定性の定量的比較や、「ねじれ」や「曲げ」の力の定数の源の検討が行なえるであろう。更にこれは、塩基配列→スタッキングエネルギーのバリエーション→塩基のねじれ、傾き、ローリング、後退のバリエーション→主鎖コンホメーションのバリエーションという重要連鎖の因果関係を明らかにすることにもつながるであろう。

参 考 文 献

- 1) 坪井正道, 生物物理 **23**, (1983) 107.
- 2) 坪井正道, 固体物理 **18**, (1983) 423.
- 3) 坪井正道, 現代化学 1983 年 11 月号 p. 12.
- 4) 中西守, 三種裕子, 坪井正道, Biochim. Biophys. Acta, 印刷中。
- 5) R. E. Depew, J. C. Wang, Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A. **72**, (1975) 4275.
- 6) 坪井正道, 富永靖徳, 占部久子, J. Chem. Phys. **78** (1983) 991.